

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
FAKULTA TEXTILNÍ

Obor B3107 Mechanická textilní technologie

Sít'ování nanovláknenných vrstev biopolymeru želatiny
Crosslinking of nanofiber layers of gelatin biopolymer

Autor:	Michaela Poláková
Vedoucí práce:	Ing. Lenka Martinová, CSc.
Konzultant:	Ing. Michal Komárek

Datum odevzdání: 15. 5. 2006

MÍSTOPŘÍSEŽNÉ PROHLÁŠENÍ:

Místopřísežně prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury pod vedením vedoucího diplomové práce.

V Liberci, dne 16. 5. 2006

.....

podpis

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že předložená bakalářská práce je původní a zpracovala jsem ji samostatně. Prohlašuji, že citace použitých pramenů je úplná, že jsem v práci neporušila autorská práva (ve smyslu zákona č. 121/2000 Sb. o právu autorském a o právech souvisejících s právem autorským).

Souhlasím s umístěním bakalářské práce v Univerzitní knihovně TUL.

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, zejména § 60 (školní dílo).

Beru na vědomí, že TUL má právo na uzavření licenční smlouvy o užití mé bakalářské práce a prohlašuji, že souhlasím s případným užitím mé bakalářské práce (prodej, zapůjčení apod.).

Jsem si vědoma toho, že užít své bakalářské práce či poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem TUL, která má právo ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, vynaložených univerzitou na vytvoření díla (až do jejich skutečné výše).

Beru na vědomí, že si svou bakalářskou práci mohu vyzvednout v Univerzitní knihovně TUL po uplynutí pěti let po obhajobě.

V Liberci, dne 16. 5. 2006

.....

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala Ing. Lence Martinové, CSc. a Ing. Michalu Komárkovi za odborné vedení, cenné rady, podněty a připomínky, které mi poskytly při vypracování této práce.

Dále bych chtěla poděkovat svým rodičům a všem blízkým za lásku a podporu, kterou mi poskytují nejen po celou dobu mých studií.

.

ANOTACE

Předmětem této práce je nalezení podmínek síťování želatinové nanovlákněné vrstvy pomocí UV záření. Ověření parametrů ovlivňujících síťovací reakci, jako je např. doba osvitů, vzdálenost textilie od zdroje záření, druh a koncentrace UV iniciátoru. Vzhledem k zamýšlenému využití nanovlákněných vrstev z želatiny v oblasti lékařství byly upřednostňovány metody méně ovlivňující zdravotní nezávadnost. Hodnocení zesíťování nanovlákněných vrstev bylo prováděno testy rozpouštění. Přítomnost UV iniciátoru v nanovlákněné vrstvě byla hodnocena pomocí infračervené spektroskopie.

ANNOTATION

The subject of this bachelor work was to find optimal conditions for UV crosslinking of gelatin nanofiber layer. And to verify parameters which can affect processing of crosslinking, time of exposition, distance between textile and source of exposition, kind and concentration of UV initiator. Regarding to intended use of gelatin nanofibres in the medical field, the methods less affecting health immaleficence was preferred. Testing of solubility was used for evaluation of nanofiber layers. For define existence of UV initiator in nanofiber layer was use IR spectroscopy.

Klíčová slova: síťování, želatina, nanovlákně, UV iniciace, FTIR

Keywords: cross-linking, gelatin, nanofibres. UV initiation, FTIR

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	9
2.1 ŽELATINA	9
2.1.1 <i>Zdroj želatiny- kolagen</i>	<i>9</i>
2.1.2 <i>Složení želatiny.....</i>	<i>10</i>
2.1.3 <i>Vlastnosti želatiny</i>	<i>10</i>
2.1.4 <i>Modifikovaná želatina.....</i>	<i>12</i>
2.1.5 <i>Aplikace želatiny v biomedicině.....</i>	<i>13</i>
2.2 ELECTROSPINNING	14
2.2.1 <i>Princip výroby nanovláken</i>	<i>14</i>
2.2.2 <i>Nanovláknna</i>	<i>15</i>
2.3 ULTRA FIALOVÉ ZÁŘENÍ.....	16
2.3.1 <i>Zdroje Ultrafialového světla</i>	<i>17</i>
2.3.2 <i>Fotoiniciace s účastí fotoiniciátoru</i>	<i>17</i>
2.3.3 <i>Sítování želatiny</i>	<i>17</i>
2.3.4 <i>Infračervená spektroskopie.....</i>	<i>18</i>
2.3.5 <i>FTIR spektroskopie.....</i>	<i>19</i>
2.4 SHRUTÍ TEORETICKÉ ČÁSTI	19
2.5 TEZE EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI.....	19
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	20
3.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	20
3.2 POUŽITÉ EXPERIMENTÁLNÍ ZAŘÍZENÍ	20
3.2.1 <i>Měření elektrické vodivosti polymeru.....</i>	<i>20</i>
3.2.2 <i>Laboratorní trn pro elektrostatické zvlákňování.....</i>	<i>20</i>
3.2.3 <i>UV lampa s vysokotlakou rtuťovou výbojkou</i>	<i>21</i>
3.2.4 <i>FTIR spektrometr.....</i>	<i>21</i>
3.3 ROZVRŽENÍ POSTUPU EXPERIMENTU.....	21
3.4 VÝROBA MODIFIKOVANÉ ŽELATINY	21
3.5 VÝBĚR VHODNÉHO UV INICIÁTORU	22
3.5.1 <i>Příprava vzorků želatiny pro elektrospinning</i>	<i>23</i>
3.5.2 <i>Elektrostatické zvlákňování želatiny.....</i>	<i>24</i>
3.6 SÍŤOVÁNÍ NANOVLÁKENNÝCH VRSTEV BIOPOLYMERU ŽELATINY POMOCÍ UV ZÁŘENÍ.....	25
3.6.1 <i>Délka expozice.....</i>	<i>25</i>
3.6.2 <i>Test rozpustnosti.....</i>	<i>26</i>
3.6.3 <i>Analýza přítomnosti UV iniciátorů.....</i>	<i>27</i>
DISKUZE.....	29
4. ZÁVĚR.....	31
5. POUŽITÁ LITERATURA.....	32

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

A [-] – absorbance

Ala - alanin

AMK – aminokyselina

Arg – Arginin

HCOOH – kyselina mravenčí

FTIR- infračervená spektroskopie

Gly-glycin

Glu- k.glutamová

GMA- glycidyl methakrylát

H₂SO₄- kyselina sírová

Hyp-hydroxyprolin

IR – infrared spectroscopy

m.w. – molekulová hmotnost

NaOH – hydroxid sodný

PAL – povrchově aktivní látka

Pro - prolin

T_{s-g} - teplota přechodu sol-gel

1. ÚVOD

Technologie využívající elektrostatickou sílu pro výrobu polymerních vláken byla známá již v 30. letech 20. století. Od té doby tato technologie pokročila o velký kus cesty, vyráběná vlákna mají průměr v intervalu 10nm až 10 μm . Specifické vlastnosti, jako jsou velký měrný povrch, malý průměr vláken a vysoká porozita, předurčují tato vlákna pro celou řadu aplikací. [1]

Architektura netkaných nanovláknenných matric díky jejich strukturní podobnosti k přírodní extracelulární matrici může představovat ideální materiál, na který buňky mohou přilnout, množit se a vytvářet tkáň. Dále velký měrný povrch k objemovému koeficientu vláken je vhodný pro intenzivní dodávku a kontrolu systému dodávky léků k poraněné tkáni. [2]

Velmi důležitým aspektem je biodegradabilita a netoxicity nanovláken užitých pro tkáňové inženýrství. Proto se hledají vhodné biopolymery a metody pro získání takovýchto vláken.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Želatina

Želatina je přírodní biopolymer získaný denaturací z kolagenu. Želatina se využívá v potravinářském a fotografickém průmyslu. Ve farmacii a zdravotnictví byla želatina dlouho užívána pro tvorbu cévních protéz, transportních systémů pro dodávku léků, krycích materiálů pro poranění, ale také pro výrobu kapslí obsahujících léky. V současnosti se také zkoumá její využití při výrobě nanovláknenné matrice pro růst buněk a jejich následného formování do tkáně.

Obecně jsou tu dva typy želatiny: typ A z vepřových kostí a typ B z telecích kostí a kůže. Želatina typu A je extrahována a zpracována kyselou úpravou, želatina typu B je získána alkalickou úpravou.

Předností želatiny je její biologický původ, biodegradabilita, biokompatibilita a komerční využitelnost za relativně nízkou cenu [3].

2.1.1 Zdroj želatiny- kolagen

Zdrojem želatiny je kolagen získaný z vepřových, hovězích nebo rybích kůží. Je hlavní složkou pojivových tkání, kostí, chrupavek, šlach a kůže. Tento kolagen je fyziologicky podobný, někdy i identický s kolagenem lidského těla. Proto je využíván pro celou řadu aplikací, jako například pro náhrady lidských tkání, pro kostní a čelistní chirurgii a také pro kosmetiku. Ztráta nebo degradace kolagenu v buňkách urychluje stárnutí. Kolagen je ale obnovitelný a jeho zdroje jsou téměř nevyčerpatelné.

Vlastnosti získávané želatiny jsou ovlivněny typem a původem zdrojového kolagenu, ale liší se i v závislosti na způsobu zpracování. Typ zdrojového kolagenu ovlivňuje poměrné zastoupení jednotlivých aminokyselin v molekule želatiny. Způsob zpracování může ovlivnit modifikaci funkčních skupin na jednotlivých AMK zbytcích. Hydrolytické štěpení (rozplétání trojšroubovicové struktury kolagenu) tzv. denaturace kolagenu může probíhat v prostředí kyselém, zásaditém, nebo případně působením enzymů, tzv. kolagenáz. [4]

2.1.2 Složení želatiny

Želatina je heterogenní směs ve vodě rozpustných proteinů s velkou molekulovou hmotností. Sušina želatiny obsahuje 98-99% proteinu. Řetězce aminokyseliny (tab.1) jsou vzájemně spojeny peptidickými vazbami. Typickým, často se opakujícím spojením AMK v řetězci makromolekuly želatiny je Gly-Pro-Hyp [3].

Tab.1. Obsah aminokyselin v želatině [%]

Glycine	26-34
Proline	10-18
Hydroxyl proline	7-15
Kyselina glutamová	10-12
Alanin	8-11
Arginin	8-9
Kyselina aspariková	6-7
Lysin	3,5
Serin	3,5
Leucin	2,8
Valin	2,4
Fenylalanin	2,2
Threonin	1,9
Isoleucin	1,2
Histidin	0,9
Hydroxylisin	0,9
Methionin	0,8
Tyrosin	0,5

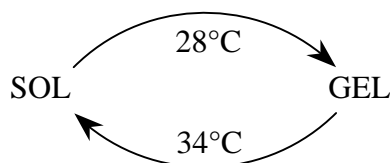
2.1.3 Vlastnosti želatiny

Želatina je téměř bez chuti a zápachu, je bezbarvá nebo světle žlutá, transparentní a křehká. Makromolekula želatiny díky přítomnosti skupin schopných nabíjet se kladně (NH_3^+) a skupin schopných získávat náboj záporný (COO^-) může v závislosti na okolním prostředí nabývat kladného i záporného náboje (tzv. amfoterní charakter). Důležitou veličinou odrážející elektrické vlastnosti želatiny je tzv.

izoiontový bod udávající pH při němž jsou kladné a záporné náboje na řetězci v rovnováze. Změny pH a tedy i elektrického náboje na řetězci želatiny ovlivňují vzájemné odpuzování či přitahování funkčních skupin a tím i konformační změny makromolekulárního řetězce [4].

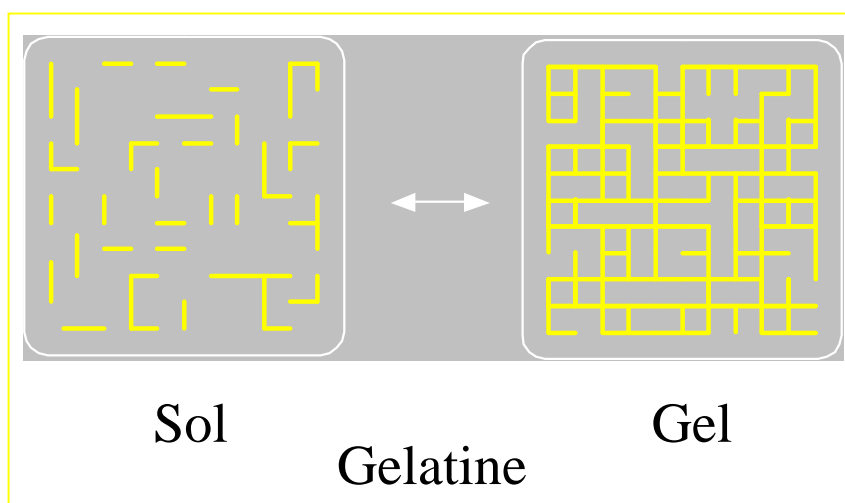
Želatina může mít podobu vloček nebo prášků rozpustných např. ve vodě, glycerolu, kyselině octové nebo mravenčí a je nerozpustná ve většině organických rozpouštědlech. Želatina je rozpustná v organických rozpouštědlech vykazující velký H-donorový efekt jako je třeba 1,1,1,3,3,3-hexafluoropropanol, nebo 2,2,2-trifluorethanol.

Želatina botná a dokáže absorbovat 5-10 ti-násobně svou hmotnost, typickou vlastností je přechod sol-gel (obr.1, 2), tento děj je inverzní, probíhá za rozdílných teplot:



Obr.1 schéma teplotního přechodu sol-gel

Při smíšení želatiny s vodou dochází k penetraci molekul vody mezi řetězce želatiny. Tento děj se nazývá botnání. Molekuly vody jsou v systému vázány pomocí vodíkových můstků. Dochází k tvorbě tzv. hydrogelu. Při postupné přeměně želatiny v



Obr.2 schéma vytváření vodíkových můstků při přechodu želatiny sol-gel

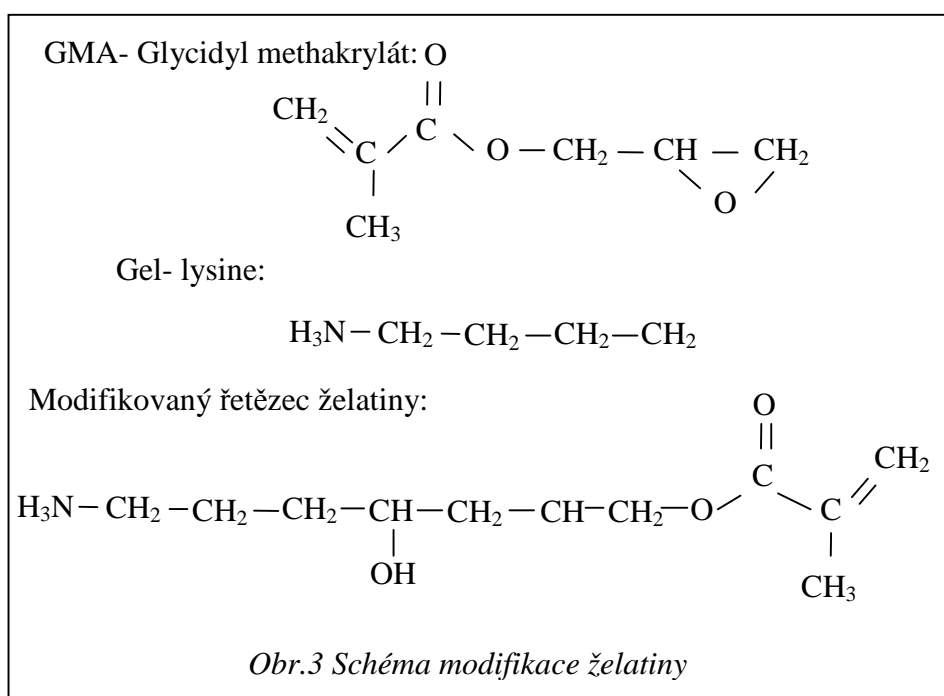
hydrogel přechází molekuly želatiny z neuspořádaného seskupení do uspořádaného. Na obrázku č. 3 je znázorněno postupné vytváření vodíkových můstků mezi jednotlivými molekulami želatiny a molekulami vody [5].

2.1.4 Modifikovaná želatina

Modifikace je záměrná přeměna fyzikálních, mechanických nebo také chemických vlastností polymeru. Rozlišujeme modifikace fyzikální, mechanicko-chemické a chemické.

Fyzikální modifikace spočívá v mechanickém smíšení dvou, nebo více polymerů. Fyzikální modifikací dochází ke změnám v mechanických vlastnostech polymeru nebo ve změnách konformace.

Mechanicko-chemická modifikace je reakcí aktivních částic vzniklých při mechanické destrukci makromolekulárních řetězců. K této destrukci může dojít mechanickou degradací směsí polymerů nebo degradací polymeru v přítomnosti monomeru.



Chemickou modifikací záměrně měníme chemickou strukturu polymeru za pomoci chemických látek nebo reakčních podmínek. Při zachování střední molekulové hmotnosti jde o polymeranalogické přeměny. Chemickou modifikací síťováním

rozumíme vzájemné spojování polymerních řetězců za vzniku prostorové sítě. Tím se snižuje rozpustnost, tavitelnost a termoplasticita polymeru a naopak se zlepšuje tvarová stálost za zvýšených teplot nebo i odolnost vůči chemikáliím [6].

Modifikace želatiny experimentálně testovaná v této práci spočívá v reakci funkčních skupin na postraních řetězcích makromolekuly želatiny (převážně amidických skupin na lysinových, nebo hydroxylysinových zbytcích) s modifikačním činidlem, kterým může být glycidyl akrylát, nebo glycidyl methakrylát. (reakční schéma je zachyceno na obr.3) Modifikace je prováděna za účelem získání nového biodegradabilního, vodě odolného polymeru s definovatelnými vlastnostmi.

Reakce probíhá při pH od 4 do 10 a teplotě 40- 60°C, převážně se skupinami bočních řetězců aminokyseliny lysinu nebo hydrolysinu. Dávka modifikačního činidla se pohybuje od 0,1 do 30% hmotnosti želatiny. To záleží na typu želatiny a obsahu reaktivních skupin lysinu a hydrolysinu. Modifikovaná želatina může být produkována ve formě fólií, filmů, proužků nebo prášku.

Následná síťovací reakce probíhá za rozštěpení dvojné vazby akrylové funkční skupiny. K iniciaci může docházet různými iniciačními činidly, reakce dále probíhá radikálovým mechanismem (viz kapitola 2.3.2) V této práci je zkoumána iniciace UV zářením. Energie dodaná UV zářením je pohlcována molekulami roztoku, v kterém dochází k přednostnímu štěpení molekuly UV iniciátoru. Rozštěpením molekuly UV iniciátoru, dochází k vytvoření volného radikálu, který je dále přenášen (propagace) na molekuly modifikované želatiny (viz kapitola 2.3.2). [7].

2.1.5 Aplikace želatiny v biomedicině

Želatina je vhodná pro širokou škálu aplikací. Její různé formy jsou běžně užívány ve farmaceutických preparátech včetně vakcín a želatinových kapslí, které jsou užívány k enkapsulaci výživy, nutričních nebo léčebných doplňků.

V současné době vede mnoho studií k chovu transgenetických zvířat produkujících lidský kolagen vhodný pro transplantaci. Patentovaný zdroj [8] poukazuje na možnost rekombinace lidského kolagenu v mléce zvířat. Tento kolagen je určen pro

náhradu poškozené lidské tkáně. Kolagen v podobě polypeptidů může být produkován hostitelským organismem, kvasinkami [9].

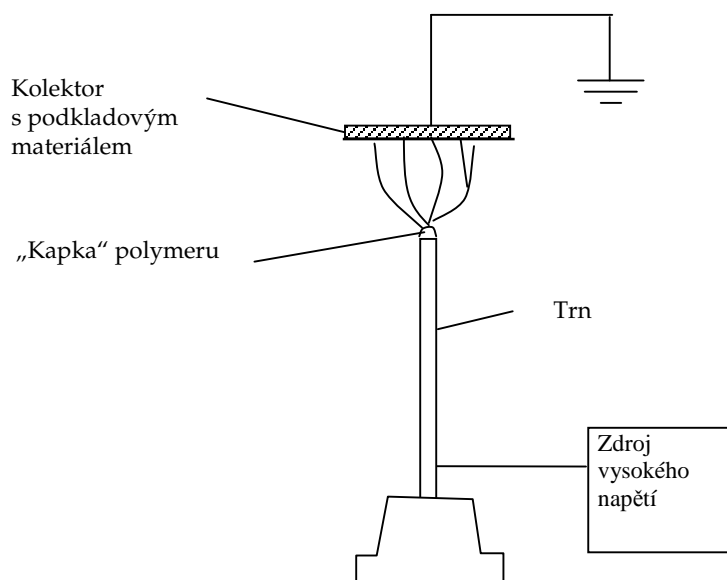
Jinou biomedicínskou aplikací jsou obvazové materiály pro krytí ran nebo také želatinové matrice užívané pro kontrolované uvolňování léčiv nebo desinfekčních přípravků do rány. Tyto matrice mají formu hydratovaného filmu, pěny, tkaných nebo netkaných vláken.

Želatinová nanovláknina slouží jako konstrukce pro růst buněk, jejich množení a organizování do tkáně. Tato tkáň může napodobit extracelulární matici [3].

2.2 Electrospinning

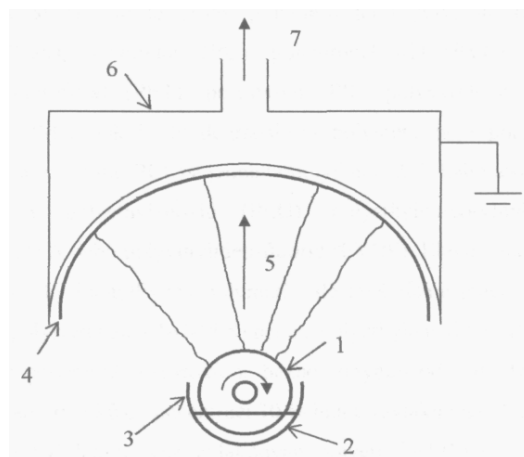
2.2.1 Princip výroby nanovláken

Nanovláknina mohou být připravena metodou elektrostatického zvlákňování polymerních roztoků (obr.4). Mezi elektrodou s polymerem a uzemněným kovovým kolektorem vzniká silné elektromagnetické pole. Při překročení kritické hodnoty potřebné k překonání povrchového napětí, dochází k vzniku vláken a jejich přenosu na kolektor. [1].



Obr.4 schéma laboratorního modelu zvlákňovacího trnu

Upravenou metodou elektrostatického zvlákňování je princip Nanospider (obr.5), který byl vyvinut na katedře Netkaných textilií na TUL Liberec. Pro výrobu nanovláken se nepoužívá tryska ani kapilára, ale rotační elektroda. Na ni se otáčením nanáší vrstva polymeru, v horní části po celé délce se vytváří Taylorovy kužely. Vzniklá vlákna se přichytávají na kontinuálně procházející podkladový materiál vyrobený například technologií spunbond nebo vpichovanou metodou. [10].



obr. 5. Schéma zařízení na elektrostatické zvlákňování vyvinuté na katedře netkaných textilií, 1- otáčivý kovový válec spojený se zdrojem napětí, 2 - zvlákňovaný roztok, 3 -zásobní nádoba, 4 - nosná vrstva, 5 - směr tvorby nanovláken, 6 - uzemněná sběrná doha, 7-odsávání vzduchu.

2.2.2 Nanovláknna

Nanovláknno je obecný pojem pro vlákna s průměrem menším než 1 mikron. Nanovláknenné vrstvy mají širokou škálu uplatnění, kde se využívá jejich specifických vlastností:

- velký měrný povrch
- vysoká poréznost
- malé velikosti pórů
- průměr vlákna do 1000 nm
- vynikající mechanické vlastnosti v poměru k jejich hmotnosti[11].

Malé průměry vláken zajišťují při nízkém tlakovém spádu výborné filtrační

vlastnosti. Takovéto vysoce výkonné filtry se využívají v průmyslu, zdravotnictví i kosmetice. Kromě filtračních vlastností mají tato vlákna i schopnost pohlcovat zvuk, který je při vstupu do nanovláknenného materiálu přeměněn na teplo. Toho se využívá především v automobilovém a leteckém průmyslu [10].

Zkoumají se i další oblasti užití nanovláken. Vynikající strukturní podobnost s buňkami lidské tkáně je předurčuje pro náhrady krevních cév, kostí, svalů a chrupavek. Jiným předpokladem je použití těchto vláken jako základní konstrukce pro růst buněk a jejich následné formování do tkáně. Další aplikací nanovláken může být jejich užití pro krycí a ob vazové materiály. Velký měrný povrch nanovláknenné matrice dovolu je pronikání kyslíku, odtoku exsudátu a zároveň brání průchodu bakteriím do rány. Tyto materiály mohou být napuštěny antibakteriálními nebo hojení urychlujícími látkami [10].

2.3 Ultra fialové záření

Ultrafialové záření je elektromagnetické vlnění o vlnové délce kratší než světlo viditelné, ale delší než jemné rentgenové paprsky. Spektrální oblast vlnových délek je rozdělena jako UVA (380- 315 nm, nazývané dlouhé vlny), UVB (315- 280 nm, zvané střední vlny) a UVC (menší než 280 nm, zvané jako krátké vlny nebo baktericidní, neboli dezinfekční) [12].

Tabulka č.2 Spektrum elektromagnetického

Typ spektra	Charakteristiky záření	
	Frekvence [Hz]	Vlnová délka [m]
Rentgenové	$3 \cdot 10^{16} - 3 \cdot 10^{20}$	$1 \cdot 10^{-12} - 1 \cdot 10^{-8}$
Ultrafialové	$7,7 \cdot 10^{14} - 3 \cdot 10^{16}$	$1 \cdot 10^{-8} - 4 \cdot 10^{-7}$
Viditelné	$3,8 \cdot 10^{14} - 7,7 \cdot 10^{14}$	$4 \cdot 10^{-7} - 7,9 \cdot 10^{-7}$
Infračervené	$1 \cdot 10^{11} - 3,8 \cdot 10^{14}$	$7,9 \cdot 10^{-7} - 3 \cdot 10^{-3}$
Mikrovlnné	$3 \cdot 10^8 - 1 \cdot 10^{11}$	$3 \cdot 10^{-3} - 1$
radiofrekvenční	$3 \cdot 10^6 - 3 \cdot 10^8$	1 - 100

2.3.1 Zdroje Ultrafialového světla

- Nízkotlaká rtuťová výbojka
- Středotlaká polychromatická UV-lampa
- UV lampa s vysokotlakou rtuťovou výbojkou

Vysokotlaká rtuťová výbojka se skládá z vnější baňky skleněné a vnitřní baňky z křemičitého skla. Ve vnitřní baňce jsou zataveny dvě hlavní a jedna pomocná elektroda. Baňka je naplněna vzácným plynem aragonem a nepatrným množstvím rtuti v kapalném stavu. Součástí výbojky je tlumivka, udržuje potřebné napětí na elektrodách.

Podstatou je doutnavý výboj, který vznikne v argonu mezi hlavní a pomocnou elektrodou. Teplem výboje se kapalná rtuť začne vypařovat, následuje doutnavý výboj v parách rtuti mezi hlavními elektrodami. Výbojka vydává viditelné světlo a UV záření [13].

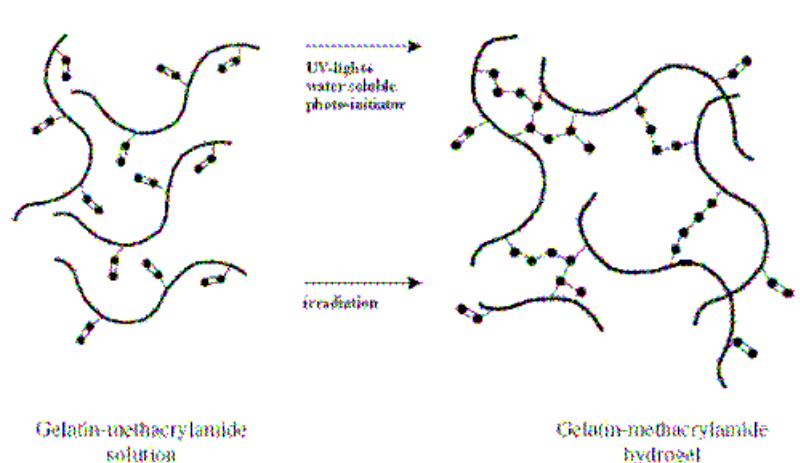
2.3.2 Fotoiniciace s účastí fotoiniciátoru

Fotoiniciace radikálové polymerace probíhá za přítomnosti fotoiniciátoru. Působením UV záření na iniciátor dojde k jeho rozpadu na radikálová růstová centra. Následuje adice monomeru k rostoucímu řetězci. Tento růst zpomaluje přenosová reakce, při které zároveň vzniká nové radikálové růstové centrum. Samovolným spojení dvou volných radikálových konců za vzniku nasycené makromolekuly reakce končí. Používanými UV iniciátory mohou být např. Luperox , Darokur nebo Dibenzoylperoxid [14].

2.3.3 Sítování želatiny

Sítování UV světlem je jednou z metod sítování používající buď ruční UV lampu v krátkých vlnových délkách nebo komerční sítovací zařízení.

Při sítování vznikají příčné kovalentní vazby mezi molekulami želatiny, dochází ke zvýšení viskozity, snížení rozpustnosti a zlepšení mechanických vlastností (obr.6) [15].



obr. 6 schéma síťovací reakce

2.3.4 Infračervená spektroskopie

Tato analytická metoda slouží k identifikaci a strukturní charakteristice organických a anorganických látek. Technika infračervené spektroskopie měří pohltivost infračerveného záření analyzovaným materiálem o různé vlnové délce. Při průchodu vzorkem dochází ke změnám rotačně vibračních energetických stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. Výstupem je graf infračerveného spektra, vyjadřuje funkční závislost energie na vlnové délce. Tato závislost se vyjadřuje buď v procentech transmutace, nebo $-T[\%]$, tj. poměr intenzity záření, které prošlo vzorkem- I [lux], k intenzitě záření vycházejícího ze zdroje- I_0 [lux]:

$$T = \frac{I}{I_0} \cdot 100[\%] \quad (1)$$

Charakterizace může být provedena také spektrem absorbančním. Absorbance je dekadickým logaritmem převrácené hodnoty transmittance

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \log \frac{100}{T} \quad (2)$$

Absorpční pásy mající vrcholy v intervalu $4000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ jsou vhodné pro identifikaci funkčních skupin (např. $-\text{OH}$, $\text{C}=\text{O}$, N-H , CH_3 aj.). Pásy v oblasti $1500 -$

400 cm⁻¹ jsou nazývané oblastí „otisku palce“ (fingerprint region). Pomocí „Search programů“ a digitalizovaných knihoven infračervených spekter je možno identifikovat neznámou analyzovanou látku.

2.3.5 FTIR spektroskopie

Dříve se používaly disperzní spektrometry, ale v 80. letech 20. Století došlo k rozšíření IR spektrometrů s Fourierovou transformací (FTIR spektrometry). Hlavní aplikací FTIR je vibrační spektroskopie pro měření absorpčních či reflektivních spekter. Výstupem je spektrální křivka [16].

2.4 Shrnutí teoretické části

Teoretická část je zaměřena na:

- Popis procesu elektrostatického zvlákňování
- Obecné vlastnosti nanovláken
- Charakteristiku želatiny a jejich chemických a fyzikálních vlastností
- Popis modifikace želatiny a následné síťování
- Popis UV, IR záření a jejich použití

2.5 Teze experimentální části

Cílem experimentu bylo nalezení podmínek síťování nanovláknenné vrstvy pomocí UV záření. A ověření parametrů ovlivňujících síťování, druh a koncentrace UV iniciátoru, doba osvit, vzdálenost textilie od zdroje osvit.

Pro určení nejvhodnějšího UV iniciátoru byly zkoumány a testovány 4 vzorky fólií z modifikované želatiny. Na třech fóliích byly vyzkoušeny tři druhy UV iniciátorů, jedna fólie byla vystavena expozici bez přídavku UV iniciátoru.

Testování vzdálenosti textilie od zdroje osvit bylo technicky omezeno pouze na dvě vzdálenosti.

Pro důkaz existence a množství UV iniciátorů v nanovláknenné vrstvě biopolymeru želatiny bylo užito infračervené spektroskopie.

Prvním krokem byla příprava modifikované želatiny, s přídavkem různé koncentrace UV iniciátoru, jakož i příprava nanovláknenných vrstev.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- Imagel BP Typ 68 917, Gelita, Želatina typu B, nemodifikovaná
- Hydroxid sodný (NaOH), 98% p.a. , pecičky, Penta , m.w. 39.99, p.a.
- GMA- glycidyl metakrylát ($C_6H_{10}O_6$), 2, 3 epoxypopyl-metakrylát, m.w. 142.156g/mol, 97% p.a.
- Kyselina sírová (H_2SO_4) 96% roztok, Lachema, m.w.:98.07, p.a.
- Kyselina mravenčí ($HCOOH$) 98% p.a., Lachema, m.w. 46.02, hustota 1.22
- Luperox ($[(CH_3)_3COOC(CH_3)_2CH_2]_2$),
2,5-bis (tert-bytylperoxy)-2,5 dimethylhexane p.a. obsah 90%, m.w. 290.44, Aldrich
- Darocur ($C_6H_5COC(CH_3)_2OH$) 2-Hydroxy-2-methylpropiophenone, m.w. 164.20g/mol, 97% p.a., Aldrich
- Dibenzoylperoxid (C_6H_5CO) $_2O_2$, m.w. 242.23, 97% p.a., Aldrich

3.2 Použité experimentální zařízení

3.2.1 Měření elektrické vodivosti polymeru

Elektrická vodivost polymerního roztoku je parametrem nepřímo charakterizujícím chování roztoku během elektrostatického zvlákňování. Měření vodivosti bylo prováděno na konduktoru firmy inoLab typ Cond 720. Sonda pracující v intervalu teplot od $-5^{\circ}C$ do $80^{\circ}C$ se ponoří do skleněné kádinky s měřeným vzorkem po okraj elektrod, cca 40 mm. Přístroj pracuje s 2% chybou. Referenční teplota je $25^{\circ}C$.

3.2.2 Laboratorní trn pro elektrostatické zvlákňování

K experimentům byl použit laboratorní model elektrostatického zvlákňování (obr. 5). Zvlákňování roztoků želatiny bylo úspěšné při teplotě vzorků v intervalu od

35- 40°C. Tato teplota byla udržována ponořením vzorku do vodní lázně. Z technických důvodů nebylo možné udržovat konstantní teplotu vodní lázně, proto je teplota vzorků uváděna v intervalu.

3.2.3 UV lampa s vysokotlakou rtuťovou výbojkou

K experimentu byla užita vysokotlaká rtuťová výbojka 200 W. Podstatou je doutnavý výboj, který vzniká mezi elektrodami ve skleněné baňce naplněné parami rtuti. Se světelným zářením vzniká současně i neviditelné ultrafialové záření.

3.2.4 FTIR spektrometr

Pro měření byl použit FTIR spektrometr firmy Perkin Elmer typ Spektrum One NTS. Přístroj měří v oblasti vlnových délek 680-4800 nm s přesností 0.028 nm v 1670nm. Spektra byla měřena reflexní metodou.

3.3 Rozvržení postupu experimentu

Experiment je zaměřen na ověření vlivu parametrů ovlivňujících síťování nanovlákných vrstev biopolymeru želatiny UV zářením. Experimenty byly prováděny následujícím postupem:

- Příprava nanovlákných vrstev modifikovaného biopolymeru želatiny
- Síťování vzniklých vrstev nanovláken metodou fotoiniciace za přítomnosti UV iniciátorů, při měnících se parametrech síťování (vzdálenost vláken od zdroje osvitu, doba osvitu, druh a koncentrace UV iniciátoru)
- Zkouška rozpustnosti nanovlákných vrstev vystavených expozici UV záření

3.4 Výroba modifikované želatiny

Podle patentu [7] byla připravena modifikovaná želatina následujícím postupem:

100 g želatiny typu B (množství odpovídá 10% želatině) bylo rozpuštěno v 900 g vody při 50°C a upraveném pH na 8,5 pomocí NaOH. Za stálého míchání po dobu 1 hodiny a teploty 50°C byl přidán glycidyl methakrylát (4,45ml). Po hodině míchání bylo upraveno pH na 7,0 pomocí H₂SO₄. Uvedený postup a množství látek ovlivňujících modifikaci odpovídal 10% želatině.

Tab.3 hmotnostní množství látek pro výrobu

16% modifikované želatiny

Látka	Množství [g]
Voda	250
Želatina typ B	44,44
GMA	1,98

V experimentu byla použita 16% želatina:

3.5 Výběr vhodného UV iniciátoru

Na želatinových foliích byly zkoušeny tři druhy UV iniciátorů: Darocur, Luperox a Dibenzoylperoxid v množství 1% hmot. ve směsi s modifikovanou želatinou, z nichž jedna folie byla bez obsahu UV iniciátoru:

- I. Fólie bez UV iniciátoru
- II. Fólie s 1% UV iniciátoru Luperox
- III. Fólie s 1% UV iniciátoru Darocur
- IV. Fólie s 1 %UV iniciátoru Dibenzoylperoxid

Vzorky byly vystaveny expozici UV světla ve vzdálenosti 5 cm po dobu 5 a 10 minut. Následně byla provedena zkouška rozpustnosti pro vyhodnocení nejúčinnějších UV iniciátorů pro další experimenty. Test rozpustnosti byl prováděn v destilované vodě laboratorní teploty. Hodnocení bylo subjektivní:

Tabulka č.4 zkoušení rozpustnosti fólií při použití různých UV iniciátorů

- - nejrychleji se rozpustil, ++ nerozpouštěl se

Fólie	5 minut	10 minut
I. bez UV iniciátoru	- -	-
II. 1% Luperox	+	++
III. 1% Darokur	++	+++
IV. 1% Dibenzoylperoxid	-	+

Z experimentu bylo zjištěno, že nejlepších výsledků bylo dosaženo u UV činidel Luperox a Darocur. (tab.4) U síťovacího činidla Dibenzoylperoxid ve formě prášku nedošlo k rozpuštění samotného činidla v želatině, zůstávaly po něm viditelné stopy. Po expozici filmu s Dibenzoylperoxidem docházelo k rozpouštění fólie v místech bez UV iniciátoru. Tzn., že zesíťování vzorku s tímto UV iniciátorem došlo, ale pouze v místech s obsahem nerozpouštěného činidla.

3.5.1 Příprava vzorků želatiny pro elektrospinning

Pro další experimenty byly zvoleny UV iniciátory Luperox a Darocur s koncentrací 1, 2 a 3%. Pro želatině v přechodu do stavu pevného gelu byla jako rozpouštědlo přidána kyselina mravenčí o koncentraci 10%. Uvedené množství není dostačující, proto byla želatina zvláknována při teplotě vyšší než je přechod sol-gel ($T_{sg} = 28^{\circ}\text{C}$). Kyselina mravenčí byla zvolena dle zkušeností jiné studie [18].

Pro experiment bylo připraveno šest vzorků, základem byla 16% modifikovaná želatina rozpouštěná kyselinou mravenčí o koncentraci 10%. Pro první tři roztoky byl použit UV iniciátor Darocur s koncentrací 1, 2 a 3% hmot.. Další tři vzorky obsahovaly UV iniciátor Luperox s koncentrací 1, 2 a 3%. Díky zvolené koncentraci kyseliny mravenčí a zvláknování při teplotě v intervalu od 34°C (přechod gel \rightarrow sol) do 40°C . nebylo potřeba používat látek snižujících povrchové napětí želatiny (PAL).

Složení roztoku a podmínky zvláknění

Typ želatiny	Gelita typ B
Koncentrace roztoku	16%
Koncentrace kyseliny mravenčí	10%
Teplota roztoku želatiny	$35-40^{\circ}\text{C}$
Napětí mezi elektrodami	30- 40kV (20 kV vytvoření prvního kónusu)
Vzdálenost mezi elektrodami	8cm

Tab. 5 Vodivost roztoků želatiny

vzorek	mScm ⁻¹
I.	8,66
II.	9,0
III.	9,22
IV.	9,4
V.	9,38
IV.	9,47

3.5.2 Elektrostatické zvlákňování želatiny

Zvlákňování vzorků s obsahem 10% koncentrací kyseliny mravenčí a obsahem UV činidel bylo obtížné.

U roztoků s více složkami dochází k vzájemnému ovlivňování jednotlivých komponent (želatina, voda, kyselina, UV iniciátor) a tedy i vlastností roztoku jako celku. Výsledné změny vlastností mají vliv i na schopnost elektrostatického zvlákňování. Vliv těchto změn je obtížné předpovědět i popsat. Popis vlastností jako celku provádíme aproximativně měřením definovatelných veličin jako je viskozita nebo elektrická vodivost roztoku.

U vzorků s obsahem 10% kyseliny mravenčí při ochlazení na laboratorní teplotu docházelo k zvýšení viskozity tak, že nebylo možné ji změřit.

Při porovnání elektrické vodivosti vzorku modifikované želatiny s kyselinou mravenčí (6,69 mS cm⁻¹) a vzorku modifikované želatiny s obsahem kyseliny mravenčí a UV iniciátoru (9,19 mS cm⁻¹) je patrné zvýšení vodivosti (tab.5).

Vzhledem k amfilitickému charakteru želatiny lze usuzovat na konformační změny v makromolekulárním řetězci, jejich vzájemné zapletení a tedy i chování roztoku během elektrostatického zvlákňování. Experiment prokázal, že přídavek UV iniciátoru ve všech roztocích, negativně ovlivnil průběh zvlákňování. Tzn. že docházelo k tvorbě nižšího počtu kónusů, které byly převážně stacionární a celková efektivita electospinningu byla snížena. Zvyšováním koncentrace UV činidla docházelo k vizuálně

výraznější schopnosti zvlákňování.

Zvlákňování každého vzorku probíhalo jiným způsobem. Nejhůře zvláknitelný byl vzorek č. IV, obsahoval 3% Luperoxu. Žádný z připravených vzorků, z důvodů požadavku na malou toxicitu, neobsahoval látky snižující povrchové napětí v kapalině. To se také projevilo na schopnosti zvlákňování. Tyto schopnosti byly také ovlivňovány stářím želatiny. Pokud byly připravené vzorky čerstvé, zvlákňování probíhalo snadněji.

Želatina ve vodném roztoku podléhá degradaci se ztrátou chemických i fyzikálních vlastností. Rychlost procesu závisí například na teplotě, s vyšší teplotou stoupá rychlost degradace. Při neutrálním pH postupuje degradace pomaleji, stejně jako štěpení peptidických vazeb. Degradací ztrácela želatina schopnost gelace, ale také zvlákňování.

Bylo zkoušeno zvlákňování pomocí laboratorního modelu Nanospider. Experiment se nezdařil, stejně jako zvlákňování použitím zahříváné elektrody. Nezdar experimentu mohl být způsoben nepřítomností PAL, nebo nedostatečným obsahem kyseliny mravenčí. Nebo také modifikací želatiny a přidavkem UV inic. ovlivňující konformaci makromolekul a tím jejich zaplétání.

3.6 Sít'ování nanovláknenných vrstev biopolymeru želatiny pomocí UV záření

Dalším experimentem bylo sít'ování nanovláknenných vrstev želatiny. Cílem bylo získat vodě-odolná vlákna a určit optimální podmínky pro sít'ování. Vzdálenosti vrstvy vláken od zdroje UV záření byly technicky omezeny pouze na dvě různé vzdálenosti 5 a 10 cm.

3.6.1 Délka expozice

Nanovláknenné vrstvy byly postupně vystavovány různým dobám osvitu. Experiment s želatinovými foliemi ukázal, že délky ozařování by se měly pohybovat v rozmezí několika minut. Při testech rozpustnosti v průběhu experimentu, byly ale zkoušené časové úseky pro expozici prodlužovány od 5 minut až na dobu 60 minut.

3.6.2 Test rozpustnosti

Hodnocení zesíťení bylo prováděno testem rozpustnosti v destilované vodě o teplotě 21°C. Cílem síťování bylo získat nerozpustná vlákna vhodná pro použití v tkáňovém inženýrství.

Hodnocení bylo subjektivní. Byla sledována rychlost rozpouštění, chování vláknenné vrstvy při ponoření do vody, zda došlo k okamžitému zborcení struktury. Pokud se vlákna nerozpustila hned po ponoření, byl měřen i čas do rozpouštění vláken.

Tabulka 6. Test rozpustnosti síťovaných nanovláknenných vrstev biopolymeru želatiny

čas	5 min.		10 min.		20 min.		30 min.		60 min
Vzd.	5 cm	10 cm	5 cm	10 cm	5 cm	10 cm	5 cm	10 cm	5 cm
I.	+++	-	+	+	++	+	++	+	+++
II.	-	--	+	-	+	-	+	-	+
III.	-	--	+	-	+	-	-	-	+
IV.	--	---	--	---	-	-	-	-	-
V.	--	-	--	-	-	-	+	-	+
VI.	-	--	-	-	--	--	-	-	-

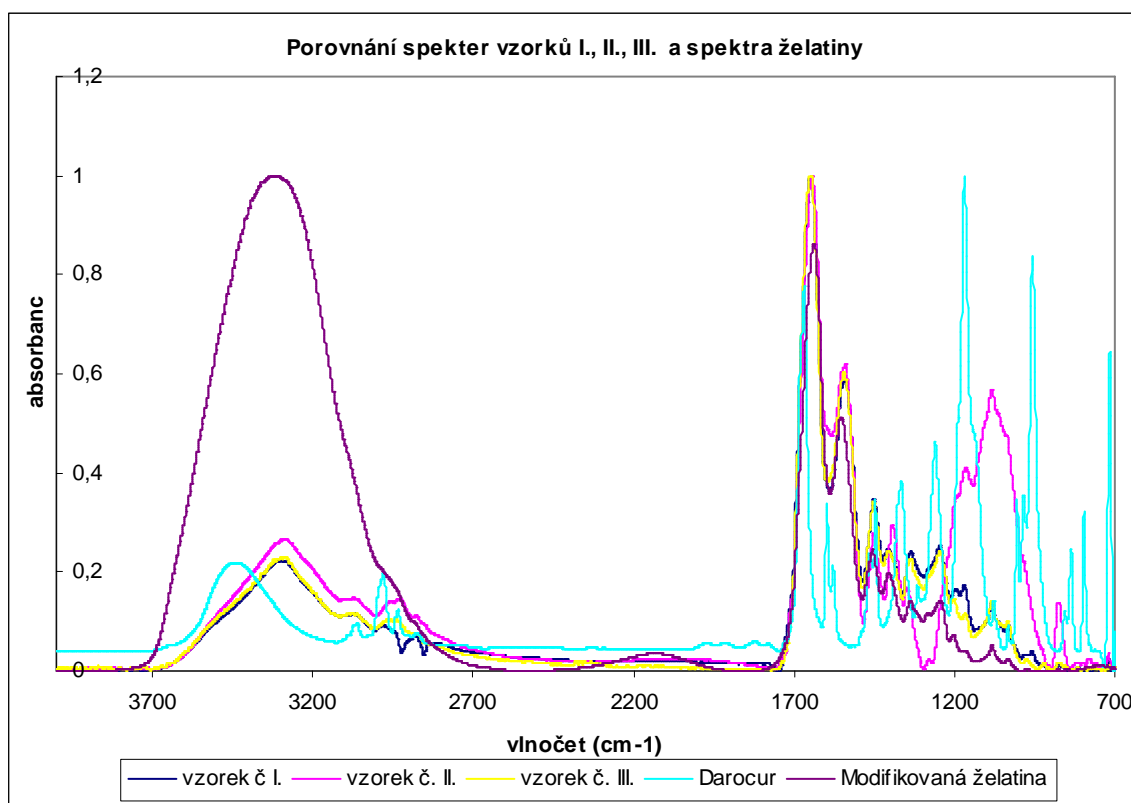
+++ nerozpouští se ani po 2 hodinách
++ nerozpouští se, pomalu bobtná
+ rozpouští se, zůstává nabobtnalý zbytek
- rozpouští se, na hladině zůstává tenký film
- - rychlé rozpouštění, zborcení struktury
- - - okamžité zborcení struktury, beze zbytku

Při testu rozpustnosti bylo zjištěno nejlepších výsledků u vzorku č. I se vzdáleností 5 cm od zdroje osvitů a délkami osvitů 5, 20, 30 a 60 minut. Nejhorších výsledků bylo dosaženo u vzorků IV. a VI. Pro další užití nanovláknenných vrstev želatiny síťovaných pomocí UV záření by mohl být zvažován vzorek č. I s 3% koncentrací UV iniciátoru Darocur.

3.6.3 Analýza přítomnosti UV iniciátorů

- Spektrum přítomnosti Darocuru v nanovlákněné vrstvě

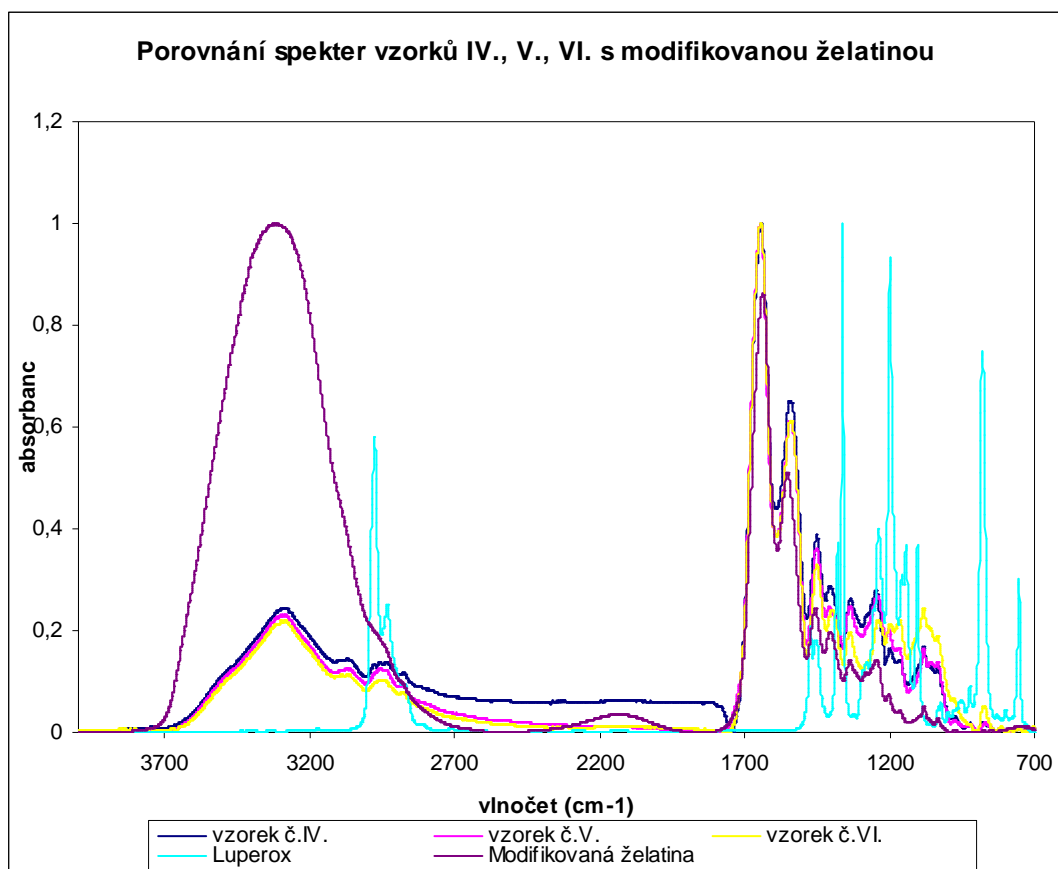
Pomocí porovnání IČ spektra vzorků s obsahem Darocuru a spektra modifikované želatiny je možné usuzovat zda je přísada UV iniciátoru zvláknován spolu z roztoku je zakomponován do vzniklé nanovlákněné vrstvy, nebo zůstává zadržován v zbytkovém roztoku.



obr. č. 7 Schéma porovnání IR spekter vzorků s obsahem Darocuru a spektra želatiny

Na grafu lze pozorovat odlišný průběh křivky absorbančních spekter UV iniciátoru a absorbančních spekter nanovlákněných vrstev zvlákněných z roztoků želatiny s přidavkem daného UV iniciátoru. Z rozdílů v charakteristických oblastech spekter (viz vysvětlivky k obrázku...) lze vyvodit, že UV iniciátor během elektrostatického zvláknování zůstal zadržován v roztoku a není tedy ve vzniklé nanovlákněné vrstvě zastoupen, popřípadě je zastoupen v tak nízké koncentraci, že již není možné ho metodou IČ spektroskopie detekovat.

- Spektrum přítomnosti Luperoxu v nanovlákně vrstvě



obr. č.8 Schéma porovnání IR spekter vzorků s obsahem Luperoxu a spektra želatiny

V obou grafech je patrné značné odlišení absorbačních křivek spekter vzorků a spektra modifikované želatiny, není proto možné jednoznačně prokázat přítomnost UV iniciátorů.

IR spektroskopie jednoznačně neprokázala přítomnost Luperoxu ani Darocuru v nanovlákně vrstvě želatiny. Podle spektra v oblasti 2900 cm^{-1} v prvním prvním grafu (obr.7) by se dala usuzovat přítomnost Darocuru. Pokud tyto látky jsou přítomny v měřených nanovlákně vrstvách, jedná se o velmi malé množství, které je pod hranicí spolehlivé detekovatelnosti IR spektroskopie.

DISKUZE

Cílem této práce bylo ověřit vliv parametrů ovlivňujících síťování nanovláknenných vrstev pomocí UV záření. Zesítnění nanovláknenných vrstev je, jak je patrné podle výsledků v tabulce 6., ovlivňováno mnoha faktory:

- koncentrací UV iniciátoru
- vzdáleností vláknenné vrstvy od zdroje osvitu
- délkou expozice

Hodnocením rozpustnosti síťovaných nanovláknenných vrstev v závislosti na koncentraci UV iniciátoru experiment ukázal, že nejlepšími výsledky bylo dosaženo u vzorku č. I. s 3% koncentrací Darocuru. Se snižováním koncentrace tohoto UV iniciátoru docházelo k rychlejší rozpustnosti nanovláknenných vrstev u vzorků II. III.

Nejhorších výsledků bylo dosaženo u IV. vzorku s 3% koncentrací Luperoxu. Tento vzorek bylo obtížné zpracovat při elektrostatickém zvlákňování. Vzniklá nanovláknenná vrstva byla velice tenká. IR spektroskopie neprokázala přítomnost tohoto UV iniciátoru v nanovláknenné vrstvě. Pokud zvažujeme přítomnost UV iniciátoru Luperox v nanovláknenné vrstvě, bylo to nepatrné množství.

Dalším důležitým faktorem byla vzdálenost od zdroje osvitu. Test rozpustnosti ukázal, že k lepším výsledkům zesítnění došlo u vrstev ležících při expozici blíž ke zdroji osvitu, tj. ve vzdálenosti 5 cm. To je dáno závislostí intenzity osvitu na vzdálenosti od zdroje. Intenzita osvitu klesá s druhou mocninou vzdálenosti, tzn. pokud je vzdálenost dvakrát větší, intenzita osvitu je čtyřikrát menší. Ve vzdálenosti 5 cm od zdroje osvitu proto působila větší intenzita záření na vzorky než při vzdálenosti 10 cm.

Délka expozice vzorků se pohybovala v intervalu od 5 min do 60 min. Nejlepšími výsledky bylo dosaženo u vzorku č. I. s obsahem 3% UV iniciátoru Darocur. U testovaného vzorku č. IV. s 3% UV činidla Luperox k zesítnění nedošlo, všechny testované nanovláknenné vrstvy byly rozpuštěny.

Dalším zvažovaným parametrem by mohla být tloušťka nanovláknenné vrstvy

vytvořené elektrostatickým zvlákňováním. Přídavky UV iniciátorů ovlivnily schopnost zvlákňování. Vrstva vytvořená ze vzorku IV. byla velice tenká. Pokud budeme zvažovat tuto skutečnost, mohlo by být nedostatečné zesílení této vrstvy způsobenou nízkou koncentrací UV iniciátoru v nanovláknenné vrstvě.

I přesto, že při experimentu s želatinovými filmy stačila 1% koncentrace UV iniciátorů, u nanovláknenných vrstev je potřeba větší koncentrace. To je dáno vlivem elektrostatického zvlákňování.

Tyto teorie potvrzuje i IR spektroskopie, která ukázala, že v nanovláknenných vrstvách není přítomný ani Darokur ani Luperox a pokud ano, jedná se o množství, které není detekováno IR spektroskopií.

IR spektroskopie jednoznačně neprokázala přítomnost Luperoxu ani Darokuru v nanovláknenné vrstvě želatiny. Podle spektra v oblasti 2900 cm^{-1} by se dala usuzovat přítomnost Darokuru na velmi malé množství, není to ale jednoznačné. Pokud tyto látky jsou přítomny v měřených nanovláknenných vrstvách, jedná se o velmi malé množství, které je pod hranicí spolehlivé detekovatelnosti IR spektroskopie.

4. ZÁVĚR

Tato práce se zabývá studiem parametrů ovlivňujících síťování nanovláknenné vrstvy modifikovaného biopolymeru želatiny. V práci byli studovány následující problémy:

- Zvláknění roztoku biopolymeru želatiny s přídavkem UV iniciátorů
- Vliv vzdálenosti na síťování
- Vliv délky expozice na nanovláknenné vrstvy
- Vliv koncentrace UV iniciátoru na síťovací reakci

Nejprve byl zvažován druh UV iniciátoru při testech síťování a rozpustnosti na fóliích z modifikované želatiny. Dobrých výsledků bylo dosaženo u fólií s obsahem UV iniciátorů Darokur a Luperox.

Při dalších experimentech byly zkoumány parametry ovlivňující síťování. Testy rozpustnosti prokázaly, že na koncentraci UV iniciátoru, vzdálenosti vláknenných vrstev od zdroje UV záření a délce UV expozice závisí výsledný efekt síťování. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u vzorku I. při vzdálenostech 5 cm od zdroje UV záření a délkách osvitů 5, 20, 30 a 60 minut.

Polymer želatiny z hlediska biokompatibility a biodegradace je vhodným materiálem pro použití v tkáňovém inženýrství, i když je to do jisté míry i nevýhodou. Želatina ve velmi krátké době cca 1 měsíce podléhá degradaci.

Experiment prokázal dobré výsledky u nanovláknenných vrstev vzorku I. ty by mohly sloužit pro další aplikace v biomedicíně. Komplikujícím faktorem by však mohla být délka osvitů 60 minut. Další testy se zvyšováním koncentrace UV iniciátorů by byly v rozporu se zamýšlenými aplikacemi v tkáňovém inženýrství. Všechny použité UV iniciátory jsou dosti toxické.

5. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Timothy Grafe, Kristine Graham, Polymeric Nanofibers and Nanofiber Webs: A New Class Of Nonwovens, MN 55440 USA, Spring 2003
- [2] Cato T. Laurencin a Lakshmi S. Nair, Polyphosphazene nanofiber for biomedical applications, University of Virginia, Charlottesville, VA-22903
- [3] Gelatin processing National Organic Standards Board Technical Advisory Panel Review March 1, 2002
- [4] Peterková, P. Lapčík L.: Kolagen- vlastnosti, modifikace a aplikace, Chem. Listy 94, 371-379
- [5] Takafumi ESAKI, Influence of Additives in Sol-Gel Transition of Gelatin, 3-5-8 Saiwai-cho Fuchuu-city Tokyo, Japan, 183-8509
- [6] Vratislav Ducháček, Polymery, výroba, vlastnosti, zpracování, použití, Praha 1995
- [7] Koepff Peter, Braumer Klaus, Babel Wilfried, Biodegradabilní, vodě odolný polymerní materiál, patent č. US5733994, 1998-03-31
- [8] Berg. R. A., Human recombinant collagen in the milk of transgenic animals, Collagen Corp 1997
- [9] Weber, S.C. and A.H. Herz, Method for recombinant yeast expression and isolation of water-soluble collagen-type polypeptides, Eastman Kodak, 1998.
- [10] <http://www.nanospider.cz/obsah.php?lang=cz&kategorie=4&id>
- [11] Oldřich Jirsák, David Lukáš, Filip Sanetník, Lenka Martinová, Jiří Chaloupek, Jana Růžicková, Eva Košťáková, Jakub Hrůza, Výroba a vlastnosti nanovláken, Technická Univerzita Liberec
- [12] A. Maliževský, J. P. Novák, S. Labík, I. Maliževská, Breviář fyzikální chemie, 24. ledna 2001
- [13] Gymnázium F. X. Šaldy • Honsovy, Verze 1.0 • leden 2006
- [14] Makromolekulární chemie, Jiří Vohlídal, Praha 1995
- [15] E. H. Schacht, Polymer chemistry and hydrogel systems, Department of Organic Chemistry, Polymer Materials Research Group Krijgslaan 281, 9000 Ghent, Belgium
- [16] Trchová, M.: Metodická příručka pro uživatele FTIR spektrometru, MFF UK, 1999